

HUBUNGAN KEKERABATAN *Shorea gysbertsiana* DENGAN TIGA JENIS *Shorea* PENGHASIL TENKAWANG LAINNYA BERDASARKAN PENANDA RAPD *Genetic relationship of Shorea gysbertsiana with other three Shorea species producing Tengkawang based on RAPD marker*

Purnamila Sulistyawati dan AYPBC Widyatmoko

Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Bioteknologi dan Pemuliaan Tanaman Hutan
Jl. Palagan Tentara Pelajar KM 15, Purwobinangun, Pakem, Sleman, Yogyakarta, Indonesia
email: purnamila@biotifor.or.id

Tanggal diterima: 20 September 2017, Tanggal direvisi: 26 September 2017, Disetujui terbit: 3 Juli 2018

ABSTRACT

The Shorea tengkawang species; Shorea pinanga, S. stenoptera, S. macrophylla, and S. gysbertsiana known for their high-value wood and non-wood products. Shorea tengkawang produces tengkawang oil which usually used as a raw material and supporting material for the manufacture of food, pharmaceuticals and cosmetics. This study determines the genetic relationship of S. gysbertsiana to other three Shorea species uses RAPD (Random Amplified Polymorphism DNA) specific loci. There were 13 specific alleles obtained from 6 RAPD primers. Among these specific alleles, there were 8 loci shared between S. gysbertsiana and S. macrophylla, and 2 loci shared with S. stenoptera. There were no specific loci shared between S. gysbertsiana and S. pinanga. This study found one specific locus for S. gysbertsiana and one specific locus between S. stenoptera and S. pinanga. These results revealed a very close genetic relationship of S. gysbertsiana to S. macrophylla and S. stenoptera. The specific loci found in this study can be used to support the morphological identification, also for supporting conservation program of these four Shorea species.

Keywords: *Loci, genetic relationship, specific alleles*

ABSTRAK

Shorea gysbertsiana, S. macrophylla, S. stenoptera, dan S. pinanga merupakan empat jenis Shorea penghasil tengkawang, karena minyak yang diperoleh dari buahnya dapat digunakan sebagai bahan baku dan bahan pelengkap pembuatan makanan, obat-obatan dan kosmetik. Penelitian ini memaparkan hubungan kekerabatan antara S. gysbertsiana dengan tiga jenis Shorea penghasil tengkawang lainnya menggunakan alel khusus yang diperoleh dari penanda RAPD (Random Amplified Polymorphisms DNA). Hasil penelitian mengidentifikasi 13 alel khusus yang diperoleh dari 6 primer RAPD. Di antara alel tersebut, terdapat 8 alel bersama antara S. gysbertsiana dan S. macrophylla, dan 2 alel bersama antara S. gysbertsiana dengan S. stenoptera. Tidak ditemukan adanya alel bersama antara S. gysbertsiana dan S. pinanga. Penelitian ini menemukan satu alel khusus pada S. gysbertsiana dan satu alel bersama antara S. stenoptera dan S. pinanga. Hasil ini mengungkapkan adanya hubungan genetik yang dekat antara S. gysbertsiana dengan S. macrophylla dan S. stenoptera. Lokus tertentu yang ditemukan dalam penelitian ini dapat digunakan untuk mendukung identifikasi jenis berdasarkan ciri morfologi, juga untuk mendukung program konservasi dari keempat spesies Shorea tersebut.

Kata kunci: *lokus, hubungan genetik, alel khusus*

I. PENDAHULUAN

Jenis *Shorea* termasuk dalam famili Dipterocarpaceae yang dikenal mempunyai kayu dengan mutu yang baik untuk digunakan sebagai *veneer*, kayu lapis, bahan bangunan dan kapal. Selain itu beberapa jenis *Shorea* juga menghasilkan produk non kayu seperti tengkawang, yang biasanya digunakan sebagai bahan baku dan bahan pendukung pembuatan makanan, obat – obatan dan kosmetik

(Adriyanti et al., 2015; Alamendah, 2004; Fajri, 2008; Martawijaya, Kartasujana, Kadir, & Prawira, 1981; Roedjai, Arsyad, & Harijanto, 1980; Sidabutar & Lumangkun, 2013; Sumadiwangsa, 2001; Sumarhani, 2007). Setidaknya terdapat 13 jenis *Shorea* penghasil tengkawang di Indonesia; 10 spesies di Kalimantan, dan 3 spesies di Sumatera (Hakim, Leksono, & Setiati, 2010; Hardjana & Rayan, 2011; Istomo & Hidayati, 2010; Purwaningsih, 2004; Wahyudi, Saridan, & Rombe, 2010). Pada

tahun 2011, Balai Besar Penelitian Dipterokarpa Samarinda melaporkan bahwa dari 13 jenis *Shorea* penghasil tengkawang yang dilindungi, 7 spesies di antaranya sudah sangat sulit ditemukan di habitat aslinya dan diperkirakan akan segera punah. *Shorea gysbertsiana* Burck dikenal sebagai *syntype* atau nama lain dari *S. macrophylla* (Newman, Burgess, & Whitmore, 1996; Soerianegara & Lemmens, 1994). *Shorea macrophylla* sendiri dikenal sebagai jenis pohon yang selain menghasilkan buah tengkawang yang dapat diambil minyaknya juga menghasilkan kayu berukuran medium sampai dengan ukuran besar yang sering digunakan sebagai salah satu pohon untuk program rehabilitasi hutan (Perumal, Wasli, Ho, Lat, & Sani, 2015, 2017). Sebagai tambahan, untuk dua jenis penghasil tengkawang lainnya yaitu *S. gysbertsiana* dan *S. stenoptera*, mempunyai perbedaan morfologi yang seringkali tidak jelas (sangat sulit dibedakan) terlihat sehingga sering terjadi kesalahan identifikasi. Oleh karena *S. stenoptera* menjadi salah satu komoditas prioritas, khususnya sebagai penghasil minyak tengkawang dengan mutu yang baik, maka penelitian tentang identifikasi spesies ini penting untuk dilakukan guna menghindari kesalahan identifikasi.

Pemahaman tentang ekologi dan struktur genetik populasi alami suatu jenis pohon tropis sangat penting untuk menentukan strategi terhadap konservasi, pembibitan, dan pengelolaan berkelanjutan (Konzen, 2014). Studi genetika bahkan lebih diperlukan untuk jenis-jenis yang menghadapi resiko kepunahan, jenis dengan distribusi terbatas, dan frekuensi langka di hutan alam, karena genetika membantu memetakan daerah dengan variabilitas genetik yang lebih tinggi, alat untuk pelaksanaan program konservasi spesies dan identifikasi jenis.

Penelitian identifikasi jenis dapat dilakukan dengan menggunakan metode taksonomi konvensional dan teknik molekuler. Namun, karena seringkali penampilan morfologi

terlihat mirip sehingga sulit untuk membedakan antar jenis, maka teknik molekuler menjadi salah satu metode yang akurat untuk mengidentifikasi spesies. Metode penanda molekuler tersebut telah menjadi dasar untuk analisis genetik, termasuk sidik jari, penemuan keragaman di dalam dan di antara populasi, struktur genetik dan deteksi tetua, dan pemetaan gen (Konzen, 2014).

Penelitian ini menggunakan RAPD (*Random Amplified Polymorphism DNA*) untuk mengidentifikasi alel dari empat spesies *Shorea* penghasil tengkawang (*S. gysbertsiana*, *S. macrophylla*, *S. stenoptera* dan *S. pinanga*). RAPD adalah penanda molekuler yang memungkinkan pengambilan sampel yang cukup dari genom individu dan mampu mendeteksi variasi dengan biaya yang relatif rendah di daerah non-coding dan pengkodean. Marka RAPD mewakili fragmen DNA berukuran berbeda yang diperoleh dengan amplifikasi menggunakan primer yang dibentuk oleh nukleotida arbitrary (umumnya 10 bp) (Williams, Kubelik, Livak, Rafalski, & Tingey, 1990). Penanda RAPD adalah alat molekuler untuk memperoleh informasi tentang struktur dan nilai keragaman genetik (Khasa & Dancik, 1996). Penanda ini berdasarkan pada teknik PCR (*Polymerase Chain Reaction*) yang menggunakan DNA dalam jumlah yang kecil sehingga metode ini sesuai jika diterapkan pada materi genetik sedikit atau spesies yang terancam punah dengan materi genetik terbatas. Beberapa jenis tanaman hutan yang baru-baru ini dikarakterisasi menggunakan penanda RAPD diantaranya adalah *Caesalpinia pulcherrima* (L.) Sw. (Rodrigues, Mazzini, Pivetta, Alves, & Desidério, 2012), *Poincianella pyramidalis* (Mendes, Araujo Neto, Nascimento, & Lima, 2014), *Calophyllum brasiliense* (Schühli, Oliveira, Oliveira, & Fowler, 2013), *Hancornia speciosa* Gomes (Da Silva, Rabbani, De Sena-Filho, Almeida, & Feitosa, 2012), dan *Nectandra megapotamica* (Costa, Reiniger, Heinzmann, Amaral, & Serrote, 2015).

Tujuan dari penelitian ini adalah mengetahui hubungan genetik antara *S. gysbertsiana* dengan tiga spesies *Shorea* penghasil tengawang lainnya dari 11 populasi di Kalimantan dan Jawa menggunakan alel spesifik yang dihasilkan penanda RAPD. Hasil penelitian ini nantinya dapat digunakan untuk mendukung strategi konservasi dan pemuliaan tanaman spesies tersebut.

II. BAHAN DAN METODE

A. Waktu dan tempat

Penelitian ini dilakukan selama kurang lebih 6 bulan di Laboratorium Genetika Molekuler Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Bioteknologi dan Pemuliaan Tanaman Hutan Yogyakarta.

B. Bahan dan alat penelitian

Bahan penelitian ini adalah daun yang dikumpulkan dari pembibitan persemaian tengawang di Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Bioteknologi dan Pemuliaan Tanaman Hutan Yogyakarta. Alat-alat penelitian yang digunakan dalam penelitian adalah peralatan baku untuk persiapan ekstraksi, ekstraksi DNA, purifikasi, kuantifikasi, amplifikasi dan elektroforesis gel. Perlakuan terdiri dari 4 spesies *Shorea* penghasil tengawang yaitu *S. pinanga*, *S. macrophylla*, *S. stenoptera* dan *S. gysbertsiana*, yang berasal dari 11 lokasi di Kalimantan dan Jawa. Untuk setiap lokasi, 6 daun diambil secara acak dari pohon yang berbeda-beda. Jumlah materi genetik daun keseluruhan yang digunakan dalam penelitian ini adalah diambil dari 66 pohon (Tabel 1 dan Gambar 1).

Tabel 1. Jenis, lokasi dan jumlah sampel dari 11 populasi *Shorea* penghasil tengawang di Kalimantan dan Jawa

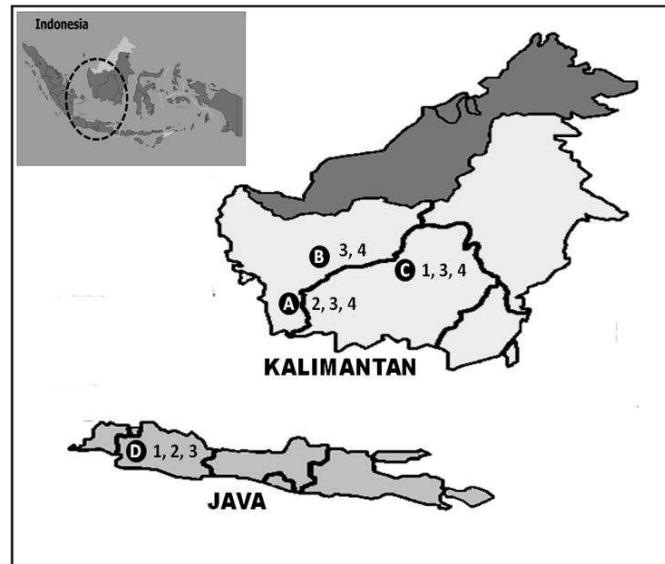
No.	Jenis	Lokasi	Singkatan	Jumlah pohon
1.	<i>S. pinanga</i>	Haurbentes, Jawa	SpH	6
2.	<i>S. pinanga</i>	Bukit Baka Central Kalimantan	SpBB	6
3.	<i>S. stenoptera</i>	Haurbentes, Jawa	SsH	6
4.	<i>S. stenoptera</i>	Gunung Bunga Bekinci, West Kalimantan	SsGBB	6
5.	<i>S. macrophylla</i>	Haurbentes, Bogor Jawa	SmH	6
6.	<i>S. macrophylla</i>	Bukit Baka, Central Kalimantan	SmBB	6
7.	<i>S. macrophylla</i>	Gunung Bunga Bekinci West Kalimantan	SmGBB	6
8.	<i>S. macrophylla</i>	Sungai Runtin, West Kalimantan	SmSR	6
9.	<i>S. gysbertsiana</i>	Bukit Baka, Central Kalimantan	SgBB	6
10.	<i>S. gysbertsiana</i>	Gunung Bunga Bekinci, West Kalimantan	SgGBB	6
11.	<i>S. gysbertsiana</i>	Sungai Runtin, West Kalimantan	SgSR	6

C. Metode

DNA daun diisolasi menggunakan metode CTAB yang telah dimodifikasi berdasarkan metode Shiraishi dan Watanabe (Shiraishi & Watanabe, 1995). Total DNA kemudian dimurnikan menggunakan Gene Clean III kit (MP Bio) dan diukur kuantitas dan rasionya (NanoVue) diikuti oleh pengenceran menjadi 2,5 ng/μl. Total volume PCR adalah 10 μl, terdiri dari larutan penyangga 10X Stoffel, 25 mM MgCl₂, 2,5 mM dNTP, 10 mM RAPD

primer, 5 U AmpliTaq Stoffel polymerase dan 10 ng/μl DNA.

Proses PCR dilakukan dengan menggunakan GeneAmp 9700 *thermocycler* (Applied Biosystems). Tahapan PCR dimulai dengan pemanasan suhu 94°C selama 2 menit, diikuti oleh 45 siklus dengan 3 tahap suhu yaitu 95°C selama 30 detik, 55°C selama 30 detik dan 72°C selama 1,5 menit. Siklus PCR diakhiri pada suhu 72°C selama 7 menit.



Gambar 1. Sebaran geografis empat spesies *Shorea* penghasil tengkawang. Huruf menunjukkan lokasi, angka menunjukkan spesies. A. Gunung Bunga Bekinci; B. Sungai Runtin; C. Bukit Baka; D. Haurbentes 1. *S. pinanga*; 2. *S. stenoptera*; 3. *S. macrophylla*; 4. *S. gysbertsiana*

Elektroforesis dilakukan menggunakan gel agarose 1,2% dicampur dengan *Ethidium bromide* dan dialiri listrik 120 volt selama 2,5 jam. Citra fragmen DNA diambil menggunakan *GelDoc Image Analyzer*.

Pemilihan penanda RAPD dilakukan menggunakan 49 penanda RAPD (*Operon Technologies*) dari 13 set penanda yaitu set penanda A, B, C, D, E, G, N, O, Q, R, X, Y, dan Z (Sulistiyawati, data tidak dipublikasikan). Proses seleksi penanda didasarkan pada pemilihan penanda yang mempunyai jumlah pola pita DNA polimorfik paling banyak, variasi fragmen, tingkat reproduisibilitas dan kejelasan pita DNA yang teramplifikasi. Seleksi penanda menghasilkan 7 penanda RAPD yang digunakan dalam penelitian ini (Tabel 2). Fragmen DNA diidentifikasi berdasarkan kehadiran hasil fragmen amplifikasi dengan klasifikasi "1" jika ada amplifikasi dan "0" jika tidak ada amplifikasi. Identifikasi lokus tertentu dilakukan berdasarkan hasil amplifikasi.

D. Analisis data

Analisis data dilakukan menggunakan program GenAlex 6.5 (Peakall & Smouse, 2012). Analisa klaster dilakukan menggunakan metode UPGMA dengan program POPGENE

1.32 (Yeh & Boyle, 1997). Data yang dianalisis adalah data hasil skoring berupa *binary diploid*.

III. HASIL DAN PEMBAHASAN

A. Keragaman genetik

Sembilan belas (19) primer RAPD diseleksi dan dipilih 7 (tujuh) primer digunakan untuk menganalisis keragaman genetik dan hubungan kekerabatan antara keempat jenis *Shorea* penghasil tengkawang. Jumlah total fragmen polimorfik dari ketujuh primer tersebut adalah 33 lokus yang bervariasi antara 3 sampai dengan 8 fragmen, dengan 33 – 83% fragmen polimorfik (Tabel 2).

Pada Tabel 3 diperlihatkan bahwa *S. gysbertsiana* dari Sungai Runtin memiliki persentase fragmen polimorfik tertinggi (75,76%), sedangkan *S. macrophylla* dari Haurbentes (39,39%) memiliki fragmen polimorfik terendah. Keragaman genetik *S. gysbertsiana* dari Sungai Runtin (0,2518) tertinggi sedangkan yang terendah adalah *S. macrophylla* dari Haurbentes (0,1552). Dengan demikian, persentase dari fragmen polimorfik sangat menentukan keragaman genetik populasi.

Tabel 2. Daftar primer RAPD, sekuens, dan jumlah fragment polimorfik

Primer	Sequence (5' to 3')	% GC	Jumlah fragmen	Fragmen Monomorfik	Fragmen polimorfik	% fragmen polimorfik
OPB-07	GGTGACGCAG	70	10	4	6	60
OPC-02	GTGAGGCGTC	70	8	3	5	63
OPC-05	GATGACCGCC	70	10	2	8	80
OPD-02	GGACCCAACC	70	9	6	3	33
OPD-13	GGGGTGACGA	70	6	3	3	50
OPG-17	ACGACCGACA	60	6	3	3	50
OPR-15	GGACAACGAG	60	6	1	5	83
Jumlah			55	22	33	60

Tabel 3. Keragaman genetik (h), Shannon Index (I) dan persentase fragmen polimorfik

Spesies	Lokasi	Keragaman genetik (h)	Shannon Index (I)	Jumlah sampel	% fragmen polimorfik
<i>S. pinanga</i>	Haurbentes, Java	0,2277	0,3379	6	60,61
<i>S. pinanga</i>	Bukit Baka Central Kalimantan	0,2239	0,3348	6	63,64
<i>S. stenoptera</i>	Haurbentes, Java	0,2042	0,3161	6	66,67
<i>S. stenoptera</i>	Gunung Bunga Bekinci, West Kalimantan	0,1922	0,2867	6	54,55
<i>S. macrophylla</i>	Haurbentes, Bogor Java	0,1552	0,2273	6	39,39
<i>S. macrophylla</i>	Bukit Baka, Central Kalimantan	0,2267	0,3350	6	60,61
<i>S. macrophylla</i>	Gunung Bunga Bekinci West Kalimantan	0,2143	0,3293	6	66,67
<i>S. macrophylla</i>	Sungai Runtin, West Kalimantan	0,2394	0,3601	6	69,70
<i>S. gysbertsiana</i>	Bukit Baka, Central Kalimantan	0,1560	0,2371	6	45,45
<i>S. gysbertsiana</i>	Gunung Bunga Bekinci, West Kalimantan	0,1906	0,2991	6	66,67
<i>S. gysbertsiana</i>	Sungai Runtin, West Kalimantan	0,2518	0,3838	6	75,76

Tabel 4. Analisa Sidik Ragam Molekuler untuk 11 populasi *Shorea* penghasil tengkawang

Sumber Variasi	Derajat Bebas	Jumlah Kuadrat	Rerata Kuadrat	Persentase Varian	P - value
Antar Region	1	7,980	7,980	0	0,77
Antar Populasi	9	83,201	9,245	12	0,001
Dalam Populasi	55	275,333	5,006	88	0,001
Total	65	366,515		100	

Keragaman genetik dari 11 populasi dari 4 jenis *Shorea* penghasil tengkawang berkisar antara 0,1552 – 0,2518. Hasil keragaman genetik ini termasuk kategori rendah apabila dibandingkan dengan hasil keragaman genetik jenis *Shorea* lainnya yaitu *Shorea smithiana* (0,4762 – 0,5481; Widyatmoko, 2015). Hasil analisis keragaman genetik beberapa jenis *Shorea* berdasarkan penanda SSR juga menampilkan angka yang lebih tinggi dari penelitian ini (Sulistyawati, Widyatmoko, & Nurtjahjaningsih, 2014; Widyatmoko, 2015).

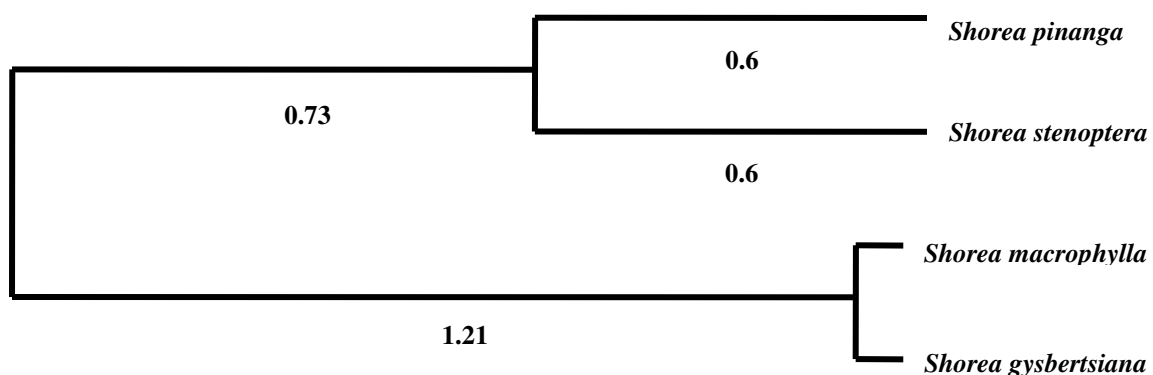
Widyatmoko (2015) menyampaikan bahwa keragaman genetik *S. stenoptera*, *S. pinanga*, dan *S. macrophylla* dari 6 populasi mempunyai keragaman genetik rata-rata 0,726, sedangkan Sulistyawati, et.al (2014) melaporkan keragaman genetik 6 populasi *S. leprosula* sebesar 0,733. Jenis-jenis *Shorea* penghasil tengkawang sudah termasuk dalam jenis yang terancam punah, sehingga kondisi ini tercermin pada keragaman genetiknya yang tidak tinggi.

Hasil dari Analisis Sidik Ragam Molekuler (Tabel 4) memperlihatkan bahwa perbedaan *P-value* antar region atau wilayah tidak berbeda nyata, sedangkan perbedaan antar populasi dan dalam populasi berbeda nyata. Hal ini berarti bahwa perbedaan wilayah/region tidak mempengaruhi perbedaan genetik. Sebagai tambahan hal ini juga mencerminkan bahwa keragaman genetik berada di dalam populasi dan antar populasi. Keragaman genetik antar region yang tidak berbeda nyata berarti bahwa terdapat aliran gen yang cukup besar terjadi diantara populasi-populasi dalam satu region tersebut. Selain itu, pada penelitian ini dalam satu region atau wilayah terdapat lebih dari satu jenis tanaman yang dianalisa sehingga tidak memperlihatkan perbedaan keragaman genetik yang signifikan. Hasil yang sama juga diperoleh pada penelitian tentang keragaman genetik tanaman Nyamplung (*Callophyllum inophyllum*), dimana perbedaan genetik antar wilayah juga sangat kecil (Nurtjahjaningsih, Haryanti, Widyatmoko, Indrioko, & Rimbawanto, 2015). Berbeda dengan hasil penelitian Widyatmoko dan Aprianto (2013) pada tanaman Ramin (*Gonystylus bancanus*), dimana terdapat jarak genetik antara wilayah/region yang signifikan yaitu sebesar 8%.

B. Hubungan kekerabatan

Penelitian hubungan kekerabatan *S. gysbertsiana* dengan 3 jenis *Shorea* penghasil tengkawang lainnya yang berasal dari 11 populasi menggunakan 7 primer RAPD yang telah diseleksi, ditujukan juga untuk mengetahui kedekatan genetik dari keempat jenis tersebut. Pada penelitian ini juga mencoba menemukan alel spesifik untuk membedakan satu spesies dengan spesies lainnya.

Analisis kluster pada 4 spesies *Shorea* penghasil tengkawang menghasilkan dendrogram yang memperlihatkan hubungan kekerabatan antara keempat jenis *Shorea* (Gambar 2). Dari dendrogram yang dihasilkan, terlihat bahwa keempat jenis *Shorea* dikelompokkan menjadi 2 kelompok, *S. gysbertsiana* dan *S. macrophylla* pada kelompok pertama, sedangkan *S. pinanga* dan *S. stenoptera* membentuk kelompok kedua. Penelitian tentang empat jenis *Shorea* penghasil tengkawang menggunakan penanda mikrosatelit juga dilaporkan oleh Nurtjahjaningsih, Widyatmoko, Sulistyawati, dan Rimbawanto (2012). Kedua hasil tersebut menunjukkan kedekatan secara genetik antara keempat jenis *Shorea* tersebut.



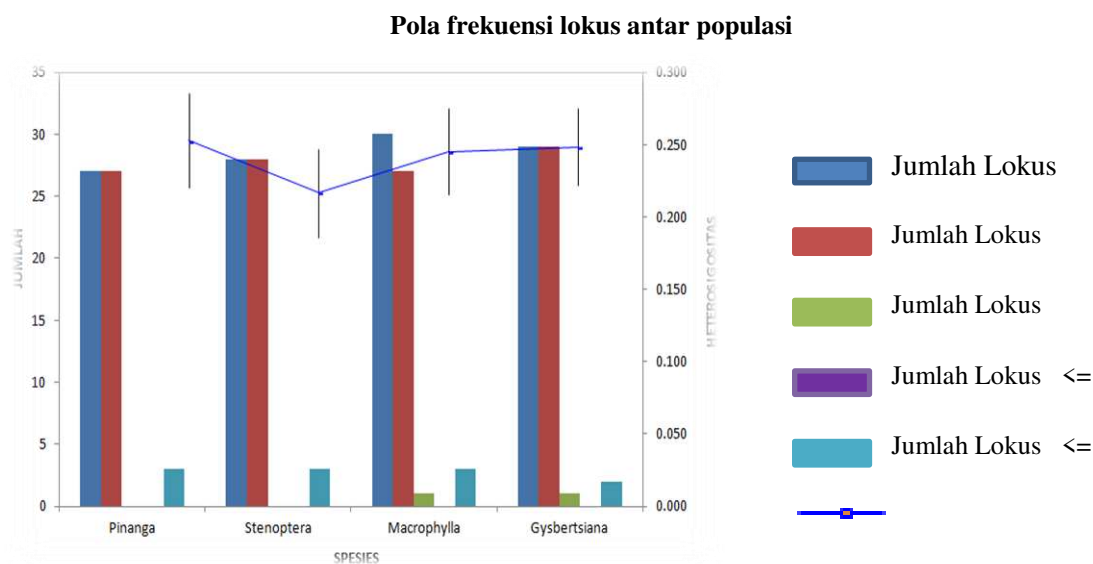
Gambar 2. Dendrogram analisis kluster empat spesies *Shorea* Tengkawang

Dengan tujuan untuk membedakan keempat jenis *Shorea* tersebut, ditemukan 13 losi khusus (Gambar 3 dan Tabel 5). Dari ketiga belas alel tersebut, 7 alel merupakan alel

bersama antara *S. gybertsiana* dan *S. macrophylla*, 2 alel bersama antara *S. gybertsiana* - *S. macrophylla* dengan *S. stenoptera*, serta 1 alel bersama antara

S. pinanga dan *S. stenoptera*. Terdapatnya 7 alel bersama antara *S. gysbertsiana* dan *S. macrophylla* mengungkapkan hubungan genetik yang sangat dekat antara kedua jenis itu. Nurtjahjaningsih et al. (2012) juga melaporkan adanya alel bersama di antara 2 atau 3 jenis *Shorea* tersebut menggunakan penanda mikrosatelit. Ditemukan juga beberapa alel bersama antara *S. gysbertsiana* dengan *S. pinanga* dan *S. stenoptera*. Seperti diketahui sebelumnya bahwa *S. gysbertsiana* merupakan *syntype* atau nama lain dari *S. macrophylla*

(Soerianegara & Lemmens, 1994). Berbeda dengan yang dilaporkan oleh Nurtjahjaningsih et al. (2012), pada penelitian ini tidak ditemukan lokus bersama antara *S. gysbertsiana* dan *S. pinanga*. Hal ini menunjukkan bahwa hubungan kekerabatan antara *S. gysbertsiana* dan *S. pinanga* lebih jauh dibandingkan dengan 2 jenis *Shorea* lainnya (*S. macrophylla* dan *S. stenoptera*). Penelitian ini menemukan satu lokus khusus untuk *S. gysbertsiana* dan satu lokus khusus untuk *S. macrophylla* (Tabel 5).



Gambar 3. Pola frekuensi lokus antar populasi

Tabel 5. Lokus bersama antara 4 jenis *Shorea* penghasil tengkawang berdasarkan 6 penanda RAPD

Spesies	Jumlah alel bersama	Nama alel
<i>S. stenoptera</i> - <i>S. gysbertsiana</i> - <i>S. macrophylla</i>	2	OPD-02-300; OPD-02-900
<i>S. macrophylla</i> - <i>S. gysbertsiana</i>	7	OPB-07-250; OPC-05-800; OPC-05-1000; OPC-05-1400; OPD-02-800; OPD-02-1000; OPD-13-600
<i>S. gysbertsiana</i>	1	OPC-05-290
<i>S. macrophylla</i>	1	OPC-02-900
<i>S. pinanga</i> , <i>S. stenoptera</i>	1	OPR-15-270
<i>S. pinanga</i>	1	OPR-15-350

Alel khusus merupakan salah satu alat untuk mengenali spesies. Rimbawanto dan Widyatmoko (2011) menyampaikan bahwa untuk ditetapkan sebagai alel khusus, maka alel tersebut harus muncul di setiap contoh dari suatu jenis tetapi tidak muncul pada semua contoh dari jenis lainnya. Disampaikan juga

bahwa sangat sulit untuk menemukan alel khusus, terlebih untuk membedakan jenis-jenis yang mempunyai hubungan kekerabatan yang dekat atau sangat dekat, seperti antara *Aquilaria macrophylla* dan *A. microcarpa*. Sedangkan untuk *S. gysbertsiana* kemungkinan mempunyai alel khusus untuk membedakannya dengan

S. pinanga atau *S. stenoptera*. Tetapi bila dengan *S. macrophylla* yang disebut sebagai *syntype* atau nama lain dari *S. gysbertsiana*, tentunya akan sangat susah untuk menemukan alel yang membedakan antara dua jenis *Shorea* tersebut. Pada penelitian ini hanya ditemukan 1 alel khusus pada *S. gysbertsiana* yang tidak terdapat pada 3 jenis *Shorea* lainnya (OPC05-290). Hal serupa ditemui pada penggunaan penanda RAPD untuk mengidentifikasi jenis bambu yang dilakukan oleh Das, Bhattacharya, dan Pal (2005) yang menemukan 2 lokus khusus dari *B. balcoa* dan *B. tulda* yang tidak ditemukan pada 14 jenis bambu yang lainnya. Satu alel khusus dapat digunakan untuk mengenali jenis, tetapi harus memenuhi syarat yang ditentukan seperti disebutkan di atas. Semakin banyak jumlah alel khusus, tentunya akan lebih baik. Cholastova, Soldanova, dan Pokorny (2011) menggunakan penanda RAPD untuk membedakan 30 jenis hibrid tanaman jagung menjadi 8 buah kelompok berdasarkan 16 lokus polimorfik. Alel khusus pada *S. gysbertsiana* belum dapat dikatakan sebagai alel khusus pembeda jenis karena tidak semua individu pada *S. gysbertsiana* mempunyai alel tersebut.

Penelitian ini dapat memberikan pernyataan bahwa *S. gysbertsiana* bukanlah nama lain atau *syntype* dari *S. macrophylla*. Walaupun keduanya mempunyai hubungan kekerabatan yang dekat dan jumlah alel bersama yang cukup banyak, tetapi *S. gysbertsiana* mempunyai struktur genetik yang berbeda dengan *S. macrophylla*. Hal ini dijelaskan dengan adanya pemisahan berdasarkan jarak genetik pada analisa kluster. Hal yang sama juga disampaikan oleh Nurtjahjningsih et al. (2012) menggunakan penanda mikrosatelit (SSR). Untuk mendapatkan alel khusus yang dapat digunakan untuk mengenali jenis, diperlukan penelitian lanjutan dengan menambahkan jumlah penanda, baik itu penanda RAPD atau penanda DNA lainnya.

Informasi mengenai keragaman genetik, hubungan kekerabatan antar jenis dan alel

spesifik dari keempat jenis *Shorea* penghasil tengkawang yang diperoleh pada penelitian ini dapat dimanfaatkan untuk berbagai kepentingan seperti penyusunan strategi konservasi genetik, hibridisasi, maupun pemuliaan. Untuk tujuan konservasi tanaman, maka jenis *S. gysbertsiana* dan *S. macrophylla* tidak bisa dianggap sebagai jenis *syntype* karena berdasarkan penanda RAPD, diketahui bahwa masing-masing jenis tersebut mempunyai lokus khusus yang bisa dapat digunakan sebagai pembeda jenis. Selain itu, berdasarkan analisa kluster, diketahui bahwa dua jenis terpisah meskipun jarak genetiknya masih berdekatan.

IV. KESIMPULAN

Rendahnya keragaman genetik dari 4 jenis *Shorea* penghasil tengkawang menggambarkan semakin menurunnya potensi genetik seiring dengan semakin menurunnya potensi sebaran alamnya. Hasil penelitian ini dapat disimpulkan bahwa *S. gysbertsiana* mempunyai kedekatan genetik dengan tiga spesies *Shorea* penghasil tengkawang lainnya dari 11 populasi di Kalimantan dan Jawa. Kedekatan hubungan yang diperlihatkan dalam penelitian ini serta diperolehnya alel bersama dan alel khusus dapat menjadi informasi yang cukup bermanfaat untuk kegiatan konservasi maupun pemuliaan dari keempat jenis tersebut di masa mendatang.

UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terima kasih ditujukan kepada tim peneliti dan teknisi kelompok peneliti Bioteknologi Hutan yang telah membantu penulis untuk melakukan pengambilan sampel daun di persemaian dan kegiatan penelitian DNA di Laboratorium Genetika Molekuler BBPPBPTH Yogyakarta.

DAFTAR PUSTAKA

Adriyanti, O. T., Hardiwinoto, S., Gresen, W., Van Der Meer, P., Coolen, Q., & Karyanto, O. (2015). Illipe nut plantation on undrained peatland. Food and Agriculture Organization of the United Nations. 14415E/1/02/15.

- Alamendah. (2004). Taksonomi Ilmiah.
- Cholastova, T., Soldanova, M., & Pokorný, R. (2011). Random amplified polymorphic DNA (RAPD) and simple sequence repeat (SSR) marker efficacy for maize hybrid identification. *African Journal of Biotechnology*, 10(24), 4794–4801.
- Costa, L. ., Reiniger, L. R., Heinzmann, B. M., Amaral, L. P., & Serrote, C. M. (2015). Study of the genetic diversity and structure of a natural population of *Nectandra megapotamica* (Spreng.) Mez. using RAPD markers. *Genet Mol Res*, 14(4), 18407–13.
- Da Silva, A. V. C., Rabbani, A. R. C., De Sena-Filho, J. G., Almeida, C. S., & Feitosa, R. B. (2012). Genetic diversity analysis of Mangaba (*Hancornia speciosa* Gomes), an exotic Brazilian tropical species. *Tropical and Subtropical Agroecosystems*, 15(2), 217–225.
- Das, M., Bhattacharya, S., & Pal, A. (2005). Generation and Characterization of SCARs by Cloning and Sequencing of RAPD Products: A Strategy for Species-specific Marker Development in Bamboo. *Annals of Botany*, 95, 835–841.
- Fajri, M. (2008). Pengenalan Umum Dipterocarpaceae, Kelompok Jenis Bernilai Ekonomi Tinggi. *Info Teknis Dipterokarpa*, 2(2), 9–21.
- Hakim, L., Leksono, B., & Setiati, D. (2010). Eksplorasi Tengkawang (*Shorea* spp.) di Sebaran Alam Kalimantan Untuk Konservasi Sumber Daya Genetik dan Populasi Pemuliaan. In *Seminar National "MAPEKI XIII" Pengembangan Ilmu dan Teknologi Kayu Untuk Mendukung Implementasi Program Perubahan Iklim* (pp. 813–822).
- Hardjana, A. K., & Rayan. (2011). Pertumbuhan Bibit tengkawang (*Shorea* spp.) Asal Biji Dari Populasi Hutan Alam Kalimantan di Persemaian B2PD Samarinda. *Jurnal Penelitian Dipterokarpa*, 5(2), 61–72.
- Istomo, & Hidayati, T. (2010). Studi Potensi dan Penyebaran Tengkawang (*Shorea* spp.) di Areal IUPHHK-HA PT. Intracawood Manufacturing Tarakan, Kalimantan Timur. *Silvikultur Tropika*, 1(1), 11–17.
- Khasa, P. D., & Dancik, B. P. (1996). Rapid Identification of White-Engelmann Spruce Species by RAPD Markers. *Theor. Appl. Genet*, 92, 46–52.
- Konzen, E. R. (2014). Towards conservation strategies for forest tree endangered species: the meaning of population genetic statistics. *Adv. For. Sci*, 1, 45–51.
- Martawijaya, A., Kartasujana, I., Kadir, K., & Prawira, S. A. (1981). *Atlas Kayu Indonesia* (I). Bogor: Balitbang.
- Mendes, R. F. M., Araujo Neto, R. B., Nascimento, M. P. S. B. C., & Lima, P. S. . (2014). RAPD analysis of the genetic diversity among accessions of *Fabaceous forages* (*Poincianella* spp) from the Caatinga. *Genet. Mol. Res.*, (13), 5832–5839. <https://doi.org/http://dx.doi.org/10.4238/2014.August.1.1>
- Newman, M. F., Burgess, P. F., & Whitmore, T. C. (1996). *Manual of dipterocarps for foresters. Borneo Island light hardwoods: Anisoptera, Parashorea, Shorea (red, white and yellow meranti)*. United Kingdom: Royal Botanic Garden Edinburgh.
- Nurtjahjaningsih, I., Haryanti, T., Widyatmoko, A. Y. P. B. C., Indrioko, S., & Rimbawanto, A. (2015). Keragaman genetik populasi *Calophyllum inophyllum* Menggunakan penanda RAPD. *Jurnal Pemuliaan Tanaman Hutan*, 9(2), 91–102.
- Nurtjahjaningsih, I., Widyatmoko, A. Y. P. B. C., Sulistyawati, P., & Rimbawanto, A. (2012). Screening Penanda Mikrosatelit *Shorea curtisii* terhadap Jenis-jenis *Shorea* Penghasil Tengkawang. *Jurnal Pemuliaan Tanaman Hutan*, 6(1), 49–56.
- Peakall, R., & Smouse, P. E. (2012). GenAlEx 6.5: genetic analysis in Excel. Population genetic software for teaching and research an update. *Bioinformatics*, 28(19), 2537–2539.
- Perumal, M., Wasli, M. E., Ho, S. Y., Lat, J., & Sani, H. (2015). Soil morphological and physicochemical properties at reforestation sites after enrichment planting of *Shorea macrophylla* in Sampadi Forest Reserve, Sarawak Malaysia, Borneo. *Journal Reserve Science Technology*, 5, 28–43.
- Perumal, M., Wasli, M. E., Ho, S. Y., Lat, J., & Sani, H. (2017). Survivorship and Growth Performance of *Shorea macrophylla* (de Vierre) after enrichment planting for reforestation purposes at Sarawak, Malaysia. *Online Journal of Biological Sciences*, 7–17.
- Purwaningsih. (2004). Sebaran ekologi jenis-jenis Dipterocarpaceae di Indonesia. *Biodiversitas*, 5(2), 89–95.
- Rimbawanto, A., & Widyatmoko, A. Y. P. B. C. (2011). Identifikasi *Aquilaria malaccensis* dan *A. microcarpa* menggunakan Penanda RAPD. *Jurnal Pemuliaan Tanaman Hutan*, 5(1), 23–30.

- Rodrigues, M. G. F. R., Mazzini, R. B., Pivetta, K. F. L., Alves, M. C., & Desidério, J. A. (2012). Characterization of the genetic variability among *Caesalpinia pulcherrima* (L.) Sw. (Fabaceae) plants using RAPD molecular markers. *Acta Scientiarum*, 34, 259–263.
- Roedjai, D., Arsyad, M. A., & Harijanto. (1980). Pemanfaatan Biji Tengkawang. *Majalah Kehutanan Indonesia*.
- Schühli, G. S., Oliveira, T. W. G., Oliveira, M. S. P., & Fowler, J. A. P. (2013). Genetic selection of *Calophyllum brasiliense* for seed Orchards. *J. Biotech. Biodivers*, 4, 371–377.
- Shiraishi, S., & Watanabe, A. (1995). Identification of chloroplast genome between *Pinus densiflora* Sieb et Zucc and *P. thumbergii* Parl based on the polymorphism in *rbcL* gene. *Journal of Japanese Forestry Society*, 77, 429–436.
- Sidabutar, H. P., & Lumangkun, A. (2013). *Technical report on the Implementation of activity 3.3. Study on the economics of tengawang seed processing*. Samarinda.
- Soerianegara, I., & Lemmens, R. H. M. (1994). Timber trees: Major commercial timbers. *Plant Resources of South-East Asia*, 5(1).
- Sulistiyawati, P., Widyatmoko, A. Y. P. B. C., & Nurtjahjaningsih, I. (2014). Keragaman Genetik Anakan *Shorea leprosula* berdasarkan Penanda Mikrosatelit. *Jurnal Pemuliaan Tanaman Hutan*, 8(3), 171–183.
- Sumadiwangsa, S. (2001). Nilai dan Daya Guna Penanaman Pohon Tengkawang (*Shorea* spp.) di Kalimantan. *Buletin Kehutanan*, 2(1).
- Sumarhani. (2007). Pemanfaatan dan Konservasi Jenis Meranti Merah Penghasil Biji Tengkawang *Shorea stenoptera* Burck dan *Shorea pinanga* Scheff. *Info Hutan*, 4(2), 177–185.
- Wahyudi, A., Saridan, A., & Rombe, R. (2010). *Sebaran dan Asosiasi Jenis Pohon Penghasil Tengkawang (Shorea spp.) di Kalimantan Barat*. Samarinda.
- Widyatmoko, A., & Aprianto. (2013). Keragaman Genetik *Gonystylus bancanus* (mig.) Kurz. Berdasarkan Penanda RAPD (*Random Amplified Polymorphic DNA*). *Jurnal Pemuliaan Tanaman Hutan*, 7(1), 53–71.
- Widyatmoko, A. Y. P. B. C. (2015). Genetic Diversity of Three Shorea Species in Ex-situ Conservation Plot in KRUS, East Kalimantan Based on SSR Markers. In *Proceedings of International Conference of Indonesia Forestry Research* (pp. 479–485).
- Williams, J. G. K., Kubelik, A. R., Livak, K. J., Rafalski, J. A., & Tingey, S. V. (1990). DNA polymorphisms amplified by arbitrary primers are useful as genetic markers. *Nucleic Acids Res*, 18, 6531–6535. <https://doi.org/10.1093/nar/18.22.6531>
- Yeh, F. C., & Boyle, T. J. B. (1997). Population genetic analysis of co-dominant and dominant markers and quantitative traits. *Belgian Journal of Botany*, (129), 157.